

Biomédica 2003;23:437-55

ARTÍCULO ORIGINAL

Valores de referencia de colinesterasa plasmática con los métodos de Michel, EQM® y Monotest® en población laboral activa del departamento de Antioquia, Colombia

Jaime Carmona-Fonseca¹

Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; ARP Seguro Social, Medellín, Colombia.

Colombia carece de valores de referencia autóctonos para colinesterasas plasmáticas (EC 3.1.1.8). El objetivo de este trabajo fue establecer valores de referencia para la población laboral activa afiliada al Seguro Social. Se diseñaron estadísticamente dos muestras, epidemiológicamente representativas de las poblaciones laborales activas del Valle de Aburrá y del cercano oriente antioqueño. Se midió la actividad colinesterásica plasmática por tres métodos (Michel, EQM® y Monotest®) en 415 personas en Aburrá y 412 en Oriente, con edad entre 18 y 49 años. Los promedios de actividad enzimática son estadísticamente similares por región, tanto con el método de Michel como con EQM (Michel: Aburrá, 1,111, y Oriente, 1,125 deltas de pH/hora; EQM: Aburrá, 2,546, y Oriente, 2,476 U/ml). Con Monotest, la media es estadísticamente mayor en Aburrá que en Oriente (5743 y 5459 U/L; $p=0,0117$). En las dos regiones y con cada método, los hombres tienen niveles de actividad enzimática estadísticamente mayores que las mujeres. Al estratificar por región y sexo, se comprueba que la edad no ejerce influencia significativa en la actividad colinesterásica plasmática, cualquiera que sea el método químico de medición. Nuestros valores son estadísticamente diferentes de los datos extranjeros: con Michel y Monotest, los niveles nuestros son superiores y con EQM son inferiores. Con base en los hallazgos, su interpretación y sus repercusiones, se piensa que estos valores debieran considerarse con prioridad, frente a los foráneos, para la toma de decisiones clínicas y epidemiológicas en el país.

Palabras clave: colinesterasa plasmática, Michel, EQM®, Monotest®, valores de referencia, población laboral.

Levels of plasma cholinesterase in Colombian working-class populations

Reference values for plasma cholinesterase (EC 3.1.1.8) are not available for Colombian populations. A representative sample of a working-class population was used to establish these values to provide reference data for use by the social security system. Two working-class populations were sampled from the Aburrá Valley (Aburrá) and eastern Antioquia (Oriente). Cholinesterase activity was measured in 827 workers, with ages spanning 18-49 years, 415 from Aburra and 412 people from Oriente. Three methods were used to measure cholinesterase: Michel, EQM® and Monotest®. The average values by Michel and EQM were not statistically different between regions (Michel: Aburrá, 1.11, and East, 1.13 deltas pH/hora; EQM: Aburrá, 2.55, and Oriente, 2.48 U/ml). By the Monotest, the enzyme average was statistically higher in Aburrá than in Oriente (5,743 and 5,459 U/L respectively; $p=0.012$). By region and technique, men had significantly higher enzymatic levels than women. Within both regions and sexes, no statistically significant difference among the three aged groups was noted. Our obtained Colombian values differed significantly from foreign reference values: Michel and Monotest levels were higher and EQM levels were lower. For making clinical and epidemiologic decisions in Colombia related to these data, the values obtained for the Colombian populations are preferred over values derived from external sources.

Key words: plasma cholinesterase, Michel, EQM®, Monotest®, reference values, working-active population.

Los plaguicidas inhibidores de las colinesterasas (PIC) se usan en forma amplia e intensa en todo el mundo y con frecuencia producen intoxicaciones, sobre todo en los trabajadores que los aplican (1-3). Cuando existe exposición prolongada y a bajas dosis, se recomienda medir la enzima eritrocitaria porque es similar en su función a la isoenzima del sistema nervioso, por la larga vida media de la célula roja y porque se afecta menos por cambios fisiológicos, enfermedades o medicamentos. La medición de la colinesterasa plasmática (EC 3.1.1.8) se recomienda como indicador de exposición aguda y para evaluar la respuesta al tratamiento contra esta intoxicación (4,5). Las dos clases de enzimas tienen diferencias importantes en su origen, en su estructura, en la especificidad de los sustratos y en la función biológica. Tanto la atención clínica de los intoxicados como las actividades de vigilancia epidemiológica de la población expuesta exigen disponer de valores de referencia para poder tomar decisiones con base científica (1-3,6).

Hasta la fecha y salvo la excepción del estudio de Henao y asociados en adolescentes trabajadores de 14 a 17 años (7), en Colombia no se encuentran disponibles valores autóctonos de las colinesterasas plasmáticas, lo cual justifica el presente trabajo. En 1995-1996, medimos en trabajadores adultos la colinesterasa sanguínea por el método de Lovibond® (8) y la colinesterasa eritrocitaria por los métodos de Michel y EQM® (en prensa). Con respecto al Lovibond, demostramos que los promedios hallados por nosotros son similares a los presentados por el fabricante del equipo, basados en personas de otro país (8). En cuanto a los promedios eritrocitarios, demostramos que nuestras cantidades son estadísticamente superiores de las recomendadas como normales por otros autores, tanto por el método de Michel como la de EQM (en prensa).

Para medir la enzima en plasma existen muchos técnicas, derivadas de varios métodos. El método

de Michel es de amplio uso, considerado el estándar, y su aplicación exige condiciones de laboratorio, al igual que Monotest® de Boehringer Mannheim; por su parte, la el método de EQM Research Inc. (Cincinnati, Ohio, USA), que llamaremos EQM®, puede usarse en condiciones de campo. En Colombia, hay gran dispersión en el empleo de una u otra alternativa para la medición de la enzima por parte de entidades como el Instituto Nacional de Salud, el Seguro Social y las empresas particulares que tienen programas de salud ocupacional. En el Seguro Social, que es la institución que mantiene más labor cotidiana en la investigación del riesgo laboral, se emplea EQM en las evaluaciones de campo y Michel en las mediciones a personas expuestas o intoxicadas con inhibidores de la colinesterasa; por su parte, Monotest no se usa en el Seguro Social, pero sí en varios países europeos.

En la presente investigación, el objetivo principal consistió en medir la actividad colinesterásica en el plasma (EC 3.1.1.8) de adultos (18-49 años) de la población laboral activa afiliada al Seguro Social, la cual está concentrada y reside en dos regiones del departamento de Antioquia, Colombia (Valle de Aburrá y cercano oriente antioqueño), situadas a diferentes alturas sobre el nivel del mar (Aburrá: 1.540 m; Oriente: 2.150 m). Los valores de actividad enzimática se midieron con tres técnicas diferentes (Michel, EQM®, Monotest®) y se presentan según región, sexo, edad, grupo sanguíneo y factor Rh. Se discuten los valores máximos permisibles de inhibición de la colinesterasa. También se hace comparación de los datos hallados con los valores encontrados por otros autores, en particular con los valores foráneos usados en Colombia para definir el estado de las personas cuya actividad de colinesterasa es evaluada. La medición de la enzima plasmática por tres métodos diferentes busca ofrecer valores de referencia para cada uno, sin intentar hacer un análisis de correlación ni mucho menos, comparar el desempeño de los tres métodos y mostrar sus fortalezas y debilidades.

Materiales y métodos

Diseño de la muestra poblacional

Se aplicó un diseño descriptivo, transversal y

Correspondencia:

Jaime Carmona-Fonseca, Carrera 51 D No. 62-29, piso 3, Medellín, Colombia.

jaimecarmonaf@hotmail.com

Recibido: 21/10/02; aceptado: 5/11/03

prospectivo (8). En 1997 se tomaron sendas muestras de las poblaciones laborales adultas, de 18 a 59 años, no expuestas a plaguicidas inhibidores de colinesterasa, vinculadas a empresas afiliadas al Seguro Social y situadas en el Valle de Aburrá y en el llamado cercano oriente antioqueño (Oriente). Las dos muestras se tomaron independientemente una de otra. El Valle de Aburrá incluyó los municipios de Caldas, La Estrella, Itagüí, Sabaneta, Envigado, Medellín, Bello, Copacabana, Girardota y Barbosa. El Oriente incluyó a Rionegro, Guarne, Marinilla, Santuario, Carmen de Viboral, El Retiro y La Ceja. El Oriente es la región del departamento de Antioquia más cerca de Medellín, la capital departamental. En estas dos áreas se concentra más del 80% de la población laboral activa afiliada al Seguro Social. Mediante entrevista a los responsables de salud ocupacional de cada empresa se obtuvo información para asegurarse de que en tal empresa no se usaban productos inhibidores de la colinesterasa. También con una entrevista a cada trabajador que aceptó participar, se descartó que usase sustancias anticolinesterasa en el trabajo, en el hogar o en otro sitio.

Se usaron los datos censales de 1985 para los municipios del Valle de Aburrá y del cercano oriente antioqueño; se calcularon las proporciones de cada sexo con respecto a la población de 18 a 59 años en cada región y, también, las proporciones de cada grupo de edad con relación a la misma población; tales proporciones por edad y sexo se usaron para aplicarlas a las proyecciones de población de 1990 para dichas zonas. De esta manera, se conformaron los ocho estratos poblacionales de cada área: 2 sexos x 4 grupos de edad = 8 estratos sexo-edad.

No se sabía cuáles eran los valores (parámetros) poblacionales de las colinesterasas eritrocitarias, plasmáticas y sanguíneas en el Valle de Aburrá y en el Oriente antioqueño. Por ese motivo, se usaron como aproximación a esos parámetros los datos de Rider y colaboradores (9) sobre niveles de colinesterasas en diferentes grupos por sexo. Según este estudio, la media aritmética de las colinesterasas eritrocitarias en hombres es de 0,766 y en mujeres de 0,750, con desviaciones

estándar de 0,081 y 0,082, respectivamente. El estudio poblacional de Rider y asociados (9) era el más grande que se conocía y en él se encontró que el nivel de colinesterasa eritrocitaria no cambia con la edad en ninguno de los dos sexos. Por esta razón, se supuso que podía utilizarse el mismo valor de la media poblacional μ para todas las edades en hombres y mujeres. Se usó como valor de la media poblacional el promedio de los dos valores de Rider $[(0,766 + 0,750)/2 = 0,758]$ y como desviación estándar de la población la mayor, es decir, 0,082.

El error de muestreo "e", el desvío que se acepta que puede tener la media aritmética de la muestra con respecto a la media poblacional ($e = \% \text{ error} \times \mu$) se definió mediante un ejercicio estadístico para observar como variaba el tamaño de la muestra según el cambio de "e"; se usó un nivel de significación (α) del 5% ($\alpha = 0,05$) y se escogió un "e" de 0,008 (8 por mil) mediante: $e = 0,0105 \times 0,758 = 0,008$, es decir, se acepta que el valor poblacional difiera del muestral en un 1,05%, que multiplicado por la media poblacional lleva a un error de muestro de 0,008 unidades reales (por ejemplo, delta de pH/hora o U/ml). Con un valor de α tan pequeño su influencia en el tamaño de la muestra es intensa, de tal forma que cuando "e" aumenta levemente, disminuye grandemente el tamaño muestral.

El tamaño de la muestra se calculó con base en $e = 0,008$, $\alpha = 0,05$ y un nivel de confianza $(1 - \alpha)$ de 0,95. El tamaño muestral (n) para el valle de Aburrá resultó de 403 y para Oriente de 402 y se calculó con la ecuación:

$$n = \frac{N Z^2 S^2}{e^2 (N - 1) + Z^2 S^2}$$

donde,

n : tamaño de la muestra;

N : tamaño de la población de referencia;

Z : unidades Z de la distribución normal de probabilidad. En este caso, Z será igual a 1,96, puesto que tomamos $\alpha = 0,05$;

S : desviación estándar, es decir, 0,082;

e : máximo error de muestreo aceptado, es decir $e = 0,008$.

El diseño muestral se hizo por el procedimiento de afijación proporcional (según sexo y edad) y con el método de muestreo aleatorio estratificado para el cálculo del tamaño de la muestra por estrato.

Los sujetos incluidos en la muestra fueron trabajadores activos, de uno u otro sexo, con edad entre 18 y 59 años, residentes en alguno de los municipios citados, vinculados a una empresa asentada en uno de tales lugares, afiliados al Seguro Social. Las personas de 60-75 que se hallaron vinculadas al trabajo, durante la ejecución de la investigación, se incluyeron en forma adicional a las exigencias de la muestra y sólo con fines exploratorios; la muestra de este estrato no se diseñó porque se pensó que debería ser muy reducido dentro de la población laboral activa. Las personas incluidas en la muestra prestaban sus servicios en empresas de textiles, confecciones, alimentos, producción de papel, hospitales y centros de salud, recreación, transporte de personas y vigilancia.

Los individuos finalmente estudiados fueron tomados al azar entre quienes aceptaron participar en el estudio y poseían las anteriores características, que obraron como criterios de inclusión. Cuando el trabajador aceptó participar, se le aplicó una encuesta personal con el fin de excluir a aquéllos que presentaran enfermedades o condiciones que pudieran modificar los niveles de actividad de la enzima (ver, criterios de inclusión). La persona rechazada se reemplazó por otra escogida también por su decisión de participar en el proyecto y que cumpliera los requisitos de admisión.

Una vez definido el tamaño muestral para cada región (Valle de Aburrá y Oriente) se procedió a la selección de los participantes en el estudio, mediante el criterio de vincularse voluntariamente luego de recibir explicación sobre la investigación. Se obtuvo el consentimiento escrito informado, firmado por cada participante. Las dos muestras finales resultaron de 415 personas en Aburrá y 412 en Oriente, para un total de 827 trabajadores.

A cada trabajador se le midió la actividad colinesterásica plasmática mediante un método potenciométrico (Michel) y dos métodos

colorimétricos (EQM®, Monotest®), métodos basadas en los principios de: 1) la medición, mediante cambio en el pH, del ácido producido a partir de la acetilcolina, acetil beta-metilcolina o de la butirilcolina; 2) la medición de la hidrólisis de la tiocolina (4,5,9-18). Las características básicas de las técnicas y métodos empleados para medir la colinesterasa en plasma son las indicadas en el cuadro 1 (4,5,9-18).

Recolección de información

Las empresas se visitaron en horario de plena actividad laboral, se reunió a los trabajadores y se les explicó cuáles eran los objetivos de la investigación, los requisitos para poder participar, los riesgos de la toma de la muestra de sangre y el destino exclusivamente para esta investigación de todos los datos recogidos con el formulario y con el análisis de la muestra de sangre. Cada persona firmó una autorización para ser incluida en la investigación.

Uno sólo de los investigadores hizo una entrevista a cada uno de los trabajadores que aceptaron participar en el trabajo, con el fin de aplicarle un formulario diseñado para recoger la información sobre identificación general, edad, sexo, uso en el trabajo, en el hogar o en otro sitio de sustancias anticolinesterasa, presencia/ausencia de estados fisiológicos como embarazo y menstruación, presencia/ausencia de enfermedades, presencia/ausencia de ingestión de drogas (ver, criterios de inclusión). Si el trabajador llenaba los requisitos de inclusión, se tomaba de inmediato la muestra de sangre para estudio de colinesterasas.

Criterios de inclusión en el estudio

Ya se enunciaron varios rasgos que se aplicaron como criterios de inclusión. Los estados fisiológicos como el embarazo y la menstruación, que modifican los valores de actividad colinesterásica, no fueron causa de exclusión. También se investigó sobre la presencia de enfermedades que alteran los niveles de colinesterasas y quien tuvo alguna de ellas no se incluyó en el estudio. No se excluyó a quien usaba medicamentos para alguna enfermedad crónica si el trabajador decía sentirse bien, pero quien dijo tomar medicamentos y afirmó no estar con buena

Cuadro 1. Características básicas de los métodos y técnicas para medir la colinesterasa plasmática informadas y aplicadas en este trabajo*.

Método y (técnica)	Michel: (electrométrica)	EQM® corregido o de Ellman modificado, (espectrofotométrica; lectura a 440 nm)	Monotest® Boehringer Mannheim (espectrofotométrica; lectura a 405 nm)
Principio de análisis	medición del pH	Colorimétrico cinético o de punto final	viraje de color por cambio de pH, cinético
Principio	Colinesterasa Acetilcolina \longrightarrow colina + acetato + H ⁺	Colinesterasa 1) Propionilcolina + H ₂ O \longrightarrow propionato + tiocolina 2) Tiocolina + DNTB \longrightarrow ácido 5-tio-2-nitrobenzoico + mezcla de disulfuros	Colinesterasa 1) Butirilcolina + H ₂ O \longrightarrow butirato + tiocolina 2) Tiocolina + DNTB \longrightarrow 2-Nitro-5-mercaptobenzoato
Muestra	suero o plasma (<i>plasma</i>)	suero o plasma (<i>plasma</i>)	suero o plasma (<i>plasma</i>)
Tiempo de reacción	60 minutos (<i>60 min</i>)	3 minutos (<i>3 min</i>)	30 segundos (<i>30 s</i>)
Volumen	20 µl (<i>20 µl</i>)	10 µl (<i>10 µl</i>)	20 µL (<i>20 µl</i>)
Temperatura	25°C (<i>25°C</i>)	21°C-40°C (<i>25°C</i>)	25°C, 30°C, 37°C (<i>25°C</i>)
pH del tampón para plasma	8,00 (<i>8,00</i>)	Reactivos autoajustan pH	Reactivos ajustan pH.

* Las condiciones aplicadas en este trabajo se encuentran en letra cursiva entre paréntesis.

salud se dejó por fuera del estudio. El color de la piel y los rasgos morfológicos faciales y corporales, que algunos llaman "raza", no fue criterio de inclusión. Todos los trabajadores estudiados estaban laborando en el momento de su inclusión.

Métodos de colinesterasa plasmática

A cada trabajador se le realizaron mediciones de la colinesterasa en plasma con una técnica potenciométrica (Michel) y dos técnicas colorimétricas que usan diferentes métodos (EQM®, Monotest®), métodos basados en los principios de: 1) la medición, mediante cambio en el pH, del ácido producido a partir de la acetilcolina, acetil beta-metilcolina o de la butirilcolina; 2) la medición de la hidrólisis de la tiocolina (4,5,9-18). Las características básicas de las técnicas y métodos empleados para medir la colinesterasa en plasma son las indicadas en el cuadro 1 (4,5,9-18)

Método de Michel: basado en una técnica potenciométrica, mide eléctricamente la cantidad de ácido según el cambio de pH producido por la acción de la enzima en una solución tampón estándar durante un tiempo determinado. Se usó

potenciómetro Metrohm. La unidad que emplea es delta de pH/hora (9,12,13).

Método EQM: fundamentado en la técnica espectrofotométrica, hace uso de un colorímetro con fuente diódica emisora de luz (LESDC, por la sigla en inglés) y mide la cantidad de ácido en función del cambio de color, el cual, a la vez, revela la modificación del pH. Este método LEDSC aplicado hace uso de un fotocolorímetro portátil fabricado por EQM Research Inc. (Cincinnati, Ohio, USA); se utilizó el modelo 176. Se mide en unidades por ml (U/ml) (17). Este método es una modificación por Magnoti (4,5) del método de Ellman (14).

Método Monotest®: derivado de una técnica cinética, mide el viraje en el color como expresión del cambio de pH. Se usó espectrofotómetro UV/VIS Perkin Ellmer con reactivos Boehringer Mannheim (conocidos como Monotest®). Se expresa en unidades/l, que son diferentes a las de EQM (18).

A cada trabajador se le tomaron 10 ml de sangre venosa periférica, repartida en dos tubos (5 ml en cada uno) con heparina, que se colocaron en

gradillas dispuestas en cajas con tapa, las cuales se pusieron en una caja aislante dotada con bolsas de hielo común, donde permanecieron 3 horas, mientras llegaban al laboratorio de análisis, donde eran colocadas en nevera a 2°C a 8°C y eran analizadas progresivamente (algunas en forma inmediata y otras quedan en espera hasta 20 horas). La muestra para Michel y para Monotest se puso en una centrífuga clínica corriente y se sometió a 2000 rpm, durante 10 minutos para separar eritrocitos y plasma. La muestra para EQM no se centrifugó, pues no se requiere (se usa sangre total como muestra y los reactivos suministrados por el fabricante neutralizan la enzima eritrocitaria para medir sólo la plasmática). En cuanto a tiempo de reacción, volumen, temperatura y pH, en Michel y EQM se aplicaron estrictamente las condiciones indicadas por Henao y colaboradores (7) y en Monotest se aplicaron las indicaciones dadas por el fabricante (18). Aunque el equipo y los reactivos de EQM permitían un análisis en condiciones por fuera de laboratorio, todas las 827 muestras se analizaron dentro del laboratorio: Michel y EQM en el Laboratorio de Salud Ocupacional del Seguro Social, el Monotest en el Laboratorio de Toxicología, Universidad de Antioquia.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usaron los programas SPSS 9.0, SGPlus 7.1 y EpilInfo 6.04. Las estadísticas descriptivas de resumen se obtuvieron con SGPlus 7.1, que las entrega en una forma directa, resumida y completa. Las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks se emplearon para evaluar el ajuste de los datos a la distribución normal. Las proporciones se compararon con pruebas de ji al cuadrado, incluso la versión de Fisher (esta última con EpilInfo 6.04). Las pruebas t para muestras independientes se usaron para comparar dos promedios. Los análisis de varianza (anova) se aplicaron para comparar simultáneamente tres o más promedios. El procedimiento no paramétrico de análisis de varianza de Kruskal y Wallis se usó para comparar dos o más medianas de variables sin distribución normal o cuando las varianzas no eran homogéneas. Para generar las triples interacciones se usó SPSS 9.0.

En el anova las sumas de cuadrados se obtuvieron por el procedimiento de tipo III para tales sumas y todas las razones F están basadas en el error residual de mínimos cuadrados. Los gráficos para representar las diferencias entre las medias y los intervalos de confianza del 95% se hicieron siempre por la prueba HSD (*honesty significative difference*) de Tukey al 95%. En el análisis de rango múltiple (ARM) siempre se usó el método de Newman-Keuls con 95% de confianza (ARM-NK).

Las pruebas estadísticas se aplicaron para comparar las dos regiones (Aburrá=415 y Oriente=412 sujetos de cualquier sexo y edad), los dos sexos (390 hombres y 437 mujeres de cualquier región y edad) y únicamente para los tres grupos de edad menores de 60 años (de cualquier región y sexo).

Todas las decisiones sobre significación estadística se tomaron con un nivel de significación menor del 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Muestra final

El cuadro 2 presenta la muestra finalmente estudiada y la diseñada. Los resultados del estudio se consideran válidos sólo para los tres grupos con edad por debajo de 50 años, pero no los otros dos grupos (50-59 y 60-75 años). En efecto, para el grupo 50-59 años no se logró hallar suficientes trabajadores activos, comparados con los exigidos en el diseño, y el grupo 60-75 años sólo se incluyó, durante la ejecución del estudio, para fines exploratorios. Para los tres estratos representativos, el número de individuos por grupo se ajusta a lo previsto en el diseño.

Hay que insistir en el hecho de que, como quedó demostrado con los análisis estadísticos efectuados y no presentados en este escrito, pero sí en un informe previo (9), no hay diferencia en los valores de colinesterasas sanguíneas entre sujetos casi seguramente sanos y aquéllos con algunos de los problemas hallados en los sujetos estudiados, pues es cierto que entre los 415 y 412 individuos estudiados en Aburrá y en Oriente varios presentaron alguna situación que podría considerarse 'no normal, no sana'. De las 827

Cuadro 2. Colinesterasas plasmáticas en población laboral activa: muestras estudiada y diseñada, según región, sexo y edad.

Estrato h	Sexo	Edad	Población		Muestra		
			Valle de Aburrá	Oriente	Valle de Aburrá	Oriente	
1	H	18-29	276.093	27.296	82 (80)	90 (91) ⁽⁰⁾	
2	H	30-39	187.942	15.100	57 (54)	53 (50)	
3	H	40-49	113.355	9.487	36 (33)	33 (32)	
4	H	50-59	68.222	6.166	13 (20)	14 (21) ⁽¹⁾	
5	H	60-75 ⁽²⁾	-----	-----	5	7	
subtotal					193	197	
6	M	18-29	325.712	29.615	95 (94)	104 (99)	
7	M	30-39	212.732	15.906	65 (61)	57 (53)	
8	M	40-49	127.041	9.893	37 (37)	33 (33)	
9	M	50-59	83.944	6.742	18 (24)	10 (23) ⁽¹⁾	
10	M	60-75 ⁽²⁾	-----	-----	7	11	
subtotal					222	215	
Total			1.395.041	120.205	415	412	

⁽⁰⁾ Sin paréntesis y letra normal, el número evaluado de trabajadores; entre paréntesis y en *cursiva*, el número calculado y requerido de personas.

⁽¹⁾ Se diseñó la muestra para este grupo de edad, pero se halló un número de trabajadores menor del requerido.

⁽²⁾ No se diseñó muestra para este estrato, pues su participación en la población es muy escasa; estas personas se incluyeron en forma adicional.

personas estudiadas: 1) 19% (161) dijo tener alguna 'enfermedad' (como hipertensión arterial, diabetes mellitus, várices de miembros inferiores; la lista de 'enfermedades' se refiere a 13 problemas diferentes, todos ellos narrados e identificados por las personas); 2) 15% (127 sujetos) estaba recibiendo fármacos de diferentes clases en el momento de ser estudiadas; 3) 8% tenía 'enfermedad' y usaba fármacos, el 74% carecía de ambos fenómenos, el 11% tenía 'enfermedad' pero no usaba medicamentos y el 7% no tenía 'enfermedad' pero sí usaba drogas; 4) los cuatro grupos de personas (no enfermos-no usan, no enfermos-sí usan, sí enfermos no usan, sí enfermos-sí usan), se compararon en función de la colinesterasa y nunca hubo diferencia significativa, según el procedimiento no paramétrico de análisis de varianza de Kruskal y Wallis; 5) tampoco hubo diferencias importantes cuando se procedió a comparar los valores de actividad enzimática entre personas con una enfermedad específica y quienes no la tienen, excepto en el caso de 'anemia'.

Distribuciones (curvas) de frecuencias de los datos obtenidos con cada método enzimático

La distribución de frecuencias de los valores por el método de medición de Michel indica que hay una fuerte tendencia a la igualdad de la media, la mediana y la moda, lo cual indica simetría de la distribución; las otras dos distribuciones (EQM y Monotest) tienen asimetría. Las medidas estandarizadas de asimetría señalan que la distribución de Michel es simétrica, pero las de EQM y Monotest tienen asimetría positiva (cola a la derecha) leve e intensa, respectivamente. La curva de Michel es normocúrtica, según la medida estandarizada de curtosis, mientras que las otras dos, sobre todo la de Monotest, son intensamente leptocúrticas. En ambas curvas, los valores de la desviación estándar son el 20%-25% del valor de sus respectivas medias y en ambas los coeficientes de variación están muy cerca del 20%-25%. Las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks para evaluar el ajuste de los datos a la distribución normal señalan que la curva

de Michel es estadísticamente normal (gaussiana), pero no así las de EQM y Monotest; la transformación logarítmica natural de los datos EQM hace que su comportamiento sea normal, según esas pruebas, y lo mismo se logra con la transformación por raíz cuadrada de los datos de Monotest.

Comportamiento de las colinesterasas al eliminar los valores extremos

Las personas sanas, como se piensa que son las examinadas en este trabajo, deben tener unos valores de colinesterasas que se comportan de cierta manera, que llamaremos fisiológica o 'sana', y que son valores que se ajustan a los valores esperados. Se supone también que esas personas deben tener valores 'sanos' no sólo para la enzima medida por una determinada técnica sino que deben tenerlos para todas las técnicas aplicadas.

Desde el punto de vista estadístico, se puede definir como 'valor sano' a aquél que se encuentra dentro del IC95% para la media aritmética. Se exigiría que cada una de las personas estuviera simultáneamente en el IC95% para cada una de las dos técnicas eritrocitarias (Michel y EQM), por un lado y, por otra parte, independiente de la anterior, se exigió que cada una de las personas estuviese simultáneamente en el IC95% para cada una de las tres técnicas plasmáticas (Michel, EQM y Cinética). El tratamiento de eliminar valores extremos (valores por fuera del IC95% para la media aritmética) o de producir series 'suavizadas', hace más homogéneos los datos, al eliminar los valores extremos superiores e inferiores y, de esa manera, se reduce la variación.

Hay que advertir que los valores estandarizados (normalizados) incluyen a 22 personas anémicas según comprobación de laboratorio. Entre ellas y las no anémicas no hay diferencia estadísticamente significativa en las colinesterasas plasmáticas, pero sí la hay en las eritrocitarias. Las personas anémicas fueron 22, de las cuales 21 son mujeres, 14 de Aburrá y 7 de Oriente. De esta manera, la variable anemia sólo influye en los resultados de las colinesterasas en mujeres.

La tarea realizada con los datos permite expresar

que, en el caso de las colinesterasas eritrocitarias, de las 827 personas iniciales, 63 fueron omitidas (por quedar fuera del IC95% de la curva normal estándar de, al menos, una de las dos pruebas) y fueron excluidas del análisis; los cálculos del IC95% se basan en 764 personas. Los resultados indican que los promedios de los datos suavizados son levemente menores que los no suavizados, pero la diferencia es significativa.

Valores de colinesterasa plasmática según región, sexo, edad y método químico

Los cuadros 3, 4 y 5 presentan los promedios, los errores estándar y los intervalos de confianza del 95% (IC95%) obtenidos en el anova de tres vías para las colinesterasas plasmáticas por los métodos Michel, EQM y cinética, según región, sexo y edad, así como los valores para las interacciones entre las tres variables mencionadas.

Método electrométrico de Michel

Región: no hay diferencia estadísticamente significativa: en Aburrá es de 1,111 deltas pH/hora y en Oriente es 1,125 deltas pH/hora.

Sexo: dentro de cada región, los hombres tienen actividad significativamente superior a las mujeres: Aburrá: 1,162 y 1,060 deltas pH/hora; Oriente: 1,176 y 1,074 deltas pH/hora.

Edad: al estratificar por región y sexo, la edad no tiene efecto.

Método espectrofotométrico EQM®

Región: no existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios por región: Aburrá: 2,547 y Oriente 2,476 U/ml.

Sexo: dentro de cada región, los hombres tienen actividad enzimática superior a las mujeres: Aburrá: 2,635 frente a 2,460 U/ml; Oriente: 2,510 y 2,442 U/ml. En Aburrá y en Oriente hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios.

Edad: luego de estratificar por región y sexo, se encuentra que la edad no tiene efecto. En general, hay tendencia creciente de los valores enzimáticos a medida que aumenta la edad, pero no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres primeros grupos de edad entre sí.

Cuadro 3. Promedios y sus intervalos de confianza para colinesterasa plasmática por el método de Michel (deltas pH/hora).

Nivel	No.	Media	Error estándar	IC95%	Media
Gran media	827	1,118	0,0090791	1,100	1,136
A: región					
Aburrá A	415	1,111	0,0131987	1,085	1,134
Oriente O	412	1,125	0,0124706	1,100	1,149
B: sexo					
Hombre H	390	1,169	0,0134577	1,142	1,195
Mujer M	437	1,067	0,0121906	1,043	1,091
C: edad					
18-29	371	1,077	0,0089864	1,059	1,094
30-39	232	1,088	0,0113525	1,066	1,110
40-49	139	1,099	0,0146462	1,070	1,127
50-59	55	1,164	0,0237668	1,117	1,210
60-75	30	1,161	0,0327376	1,097	1,226
AB: región-sexo					
A-H	193	1,162	0,0199457	1,122	1,201
A-M	222	1,060	0,0172914	1,026	1,094
O-H	197	1,176	0,0180724	1,140	1,211
O-M	215	1,074	0,0171886	1,040	1,108
AC: región-edad					
A;18-29	177	1,079	0,0129972	1,053	1,104
A;30-39	122	1,078	0,0156465	1,047	1,108
A;40-49	73	1,087	0,0201855	1,048	1,127
A;50-59	31	1,161	0,0313836	1,100	1,223
A;60-75	12	1,149	0,0504879	1,050	1,248
O;18-29	194	1,075	0,0124135	1,050	1,099
O;30-39	110	1,098	0,0164532	1,066	1,131
O;40-49	66	1,110	0,0212270	1,068	1,152
O;50-59	24	1,166	0,0357003	1,096	1,236
O;60-75	18	1,174	0,0416890	1,092	1,256
BC: sexo-edad					
H;18-29	172	1,149	0,0131634	1,124	1,175
H;30-39	110	1,149	0,0164532	1,116	1,181
H;40-49	69	1,178	0,0207801	1,137	1,218
H;50-59	27	1,196	0,0332106	1,131	1,261
H;60-75	12	1,171	0,0504879	1,072	1,270
O;18-29	199	1,004	0,0122371	0,980	1,028
O;30-39	122	1,027	0,0156465	0,996	1,058
O;40-49	70	1,020	0,0206453	0,979	1,060
O;50-59	28	1,131	0,0340074	1,064	1,198
O;60-75	18	1,152	0,0416890	1,070	1,234
ABC: región-sexo-edad					
A-H;18-29	82	1,147	0,0206978	1,107	1,188
A-H;30-39	57	1,096	0,0248253	1,047	1,145
A-H;40-49	36	1,173	0,0312378	1,112	1,234
A-H;50-59	13	1,179	0,0519828	1,076	1,281
A-H;60-75	5	1,213	0,0838197	1,048	1,378
A-M;18-29	95	1,010	0,0192296	0,973	1,048
A-M;30-39	65	1,059	0,0232474	1,013	1,105
A-M;40-49	37	1,002	0,0308127	0,941	1,062
A-M;50-59	18	1,144	0,0441769	1,057	1,231
A-M;60-75	7	1,084	0,0708406	0,945	1,224
O-H;18-29	90	1,152	0,0164345	1,119	1,184
O-H;30-39	53	1,201	0,0214161	1,159	1,243
O-H;40-49	33	1,182	0,0271407	1,129	1,236
O-H;50-59	14	1,214	0,0416690	1,132	1,296
O-H;60-75	7	1,129	0,0589289	1,013	1,245
O-M;18-29	104	0,998	0,0152884	0,968	1,028
O-M;30-39	57	0,995	0,0206509	0,955	1,036
O-M;40-49	33	1,038	0,0271407	0,985	1,091
O-M;50-59	10	1,119	0,0493035	1,022	1,216
O-M;60-75	11	1,219	0,0470090	1,127	1,312

Nota: la desviación estándar (DE) se obtiene con $DE=EE \times \sqrt{n}$

Cuadro 4. Promedios e intervalos de confianza de la colinesterasa plasmática por el método de EQM® (U/ml).

Nivel	No.	Media	Error estándar	IC95%	Media
Gran media	827	2,512	0,0215376	2,469	2,554
A: región					
A: región					
Aburrá A	415	2,548	0,0313101	2,487	2,609
Oriente O	412	2,476	0,0295828	2,419	2,534
B: sexo					
Hombre H	390	2,572	0,0319246	2,509	2,635
Mujer M	437	2,451	0,0289186	2,394	2,508
C: edad					
18-29	371	2,360	0,0213176	2,318	2,402
30-39	232	2,488	0,0269306	2,436	2,541
40-49	139	2,495	0,0347438	2,426	2,563
50-59	55	2,624	0,0563799	2,513	2,734
60-75	30	2,591	0,0776604	2,439	2,744
AB: región-sexo					
A-H	193	2,635	0,0473154	2,543	2,728
A-M	222	2,460	0,0410189	2,380	2,541
O-H	197	2,510	0,0428715	2,425	2,594
O-M	215	2,442	0,0407750	2,362	2,522
AC: región-edad					
A;18-29	177	2,350	0,0308320	2,290	2,411
A;30-39	122	2,433	0,0371167	2,360	2,506
A;40-49	73	2,540	0,0478843	2,446	2,634
A;50-59	31	2,681	0,0744486	2,535	2,827
A;60-75	12	2,733	0,1197678	2,498	2,968
O;<30	194	2,370	0,0294474	2,312	2,428
O;30-39	110	2,544	0,0390305	2,467	2,620
O;40-49	66	2,449	0,0503549	2,350	2,548
O;50-59	24	2,566	0,0846886	2,400	2,732
O;60-75	18	2,449	0,0988950	2,255	2,643
BC: sexo-edad					
H;18-29	172	2,479	0,0312262	2,418	2,541
H;30-39	110	2,638	0,0390305	2,561	2,714
H;40-49	69	2,577	0,0492947	2,480	2,674
H;50-59	27	2,610	0,0787825	2,455	2,764
H;60-75	12	2,557	0,1197678	2,322	2,792
O;18-29	199	2,241	0,0290290	2,184	2,298
O;30-39	122	2,339	0,0371167	2,266	2,412
O;40-49	70	2,412	0,0489750	2,316	2,508
O;50-59	28	2,638	0,0806727	2,479	2,796
O;60-75	18	2,626	0,0988950	2,431	2,820
ABC: región-sexo-edad					
A-H;18-29	82	2,505	0,0487945	2,409	2,600
A-H;30-39	57	2,562	0,0585249	2,447	2,677
A-H;40-49	36	2,643	0,0736422	2,498	2,787
A-H;50-59	13	2,606	0,1225480	2,365	2,847
A-H;60-75	5	2,858	0,1976028	2,470	3,247
A-M;18-29	95	2,196	0,0453332	2,107	2,285
A-M;30-39	65	2,304	0,0548051	2,196	2,411
A-M;40-49	37	2,437	0,0726402	2,295	2,580
A-M;50-59	18	2,756	0,1041458	2,551	2,961
A-M;60-75	7	2,609	0,1670048	2,280	2,937
O-H;18-29	90	2,454	0,0393360	2,377	2,532
O-H;30-39	53	2,713	0,0512594	2,612	2,814
O-H;40-49	33	2,512	0,0649612	2,384	2,639
O-H;50-59	14	2,613	0,0997349	2,417	2,809
O-H;60-75	7	2,256	0,1410465	1,978	2,533
O-M;18-29	104	2,285	0,0365927	2,214	2,357
O-M;30-39	57	2,375	0,0494281	2,277	2,472
O-M;40-49	33	2,387	0,0649612	2,259	2,515
O-M;50-59	10	2,519	0,1180079	2,287	2,751
O-M;60-75	11	2,643	0,1125162	2,422	2,864

Nota: la desviación estándar DE se obtiene con $DE = EE \times \sqrt{n}$

Cuadro 5. Promedios e intervalos de confianza de la colinesterasa plasmática por el método de Monotest® (U/l).

Nivel	No.	Media	Error estándar	IC95% para la media	
Gran media	827	5601	56,2	5491	5711
A: región					
Aburrá A	415	5743	81,6	5583	5903
Oriente O	412	5459	77,1	5308	5611
B: sexo					
Hombre H	390	5822	83,2	5659	5985
Mujer M	437	5380	75,4	5232	5528
C: edad					
18-29	371	5297	55,6	5188	5406
30-39	232	5479	70,2	5341	5617
40-49	139	5569	90,5	5391	5747
50-59	55	5846	147,0	5558	6135
60-75	30	5814	202,5	5417	6212
AB: región-sexo					
A-H	193	6026	123,4	5784	6268
A-M	222	5460	106,9	5250	5670
O-H	197	5618	111,8	5399	5838
O-M	215	5300	106,3	5092	5509
AC: región-edad					
A;18-29	177	5372	80,4	5214	5530
A;30-39	122	5624	96,8	5434	5814
A;40-49	73	5867	124,8	5622	6112
A;50-59	31	5864	194,1	5482	6245
A;60-75	12	5987	312,2	5374	6600
O;<30	194	5222	76,8	5071	5372
O;30-39	110	5334	101,8	5134	5534
O;40-49	66	5271	131,3	5013	5528
O;50-59	24	5829	220,8	5395	6262
O;60-75	18	5641	257,8	5135	6147
BC: sexo-edad					
H;18-29	172	5724	81,4	5564	5884
H;30-39	110	5809	101,8	5609	6008
H;40-49	69	5951	128,5	5699	6203
H;50-59	27	5880	205,4	5476	6283
H;60-75	12	5747	312,2	5134	6360
M;18-29	199	4870	75,7	4721	5018
M;30-39	122	5150	96,8	4960	5340
M;40-49	70	5187	127,7	4936	5437
M;50-59	28	5813	210,3	5400	6226
M;60-75	18	5882	257,8	5375	6388
ABC: región-sexo-edad					
A-H;18-29	82	5907	132,0	5647	6166
A-H;30-39	57	5876	158,4	5565	6188
A-H;40-49	36	6359	199,3	5967	6751
A-H;50-59	13	5677	331,6	5025	6329
A-H;60-75	5	6312	534,7	5259	7362
A-M;18-29	95	4838	122,7	4596	5079
A-M;30-39	65	5372	148,3	5081	5664
A-M;40-49	37	5375	196,6	4989	5762
A-M;50-59	18	6051	281,8	5497	6605
A-M;60-75	7	5664	451,9	4775	6553
O-H;18-29	90	5542	96,8	5351	5732
O-H;30-39	53	5741	126,1	5493	5989
O-H;40-49	33	5543	159,9	5229	5857
O-H;50-59	14	6083	245,4	5600	6565
O-H;60-75	7	5183	347,1	4500	5865
O-M;18-29	104	4902	90,0	4725	5079
O-M;30-39	57	4927	121,6	4688	5167
O-M;40-49	33	4998	159,9	4684	5312
O-M;50-59	10	5575	290,4	5004	6146
O-M;60-75	11	6099	276,9	5555	6643

Nota: la desviación estándar DE se obtiene con $DE=EE \times \sqrt{n}$

Método espectrofotométrico cinético de Monotest®

Región: el promedio es significativamente mayor en Aburrá que en Oriente (5.743 y 5.459 U/l, en su orden).

Sexo: en cada región, los hombres tienen actividad enzimática significativamente superior a las mujeres, tanto en Aburrá (6.026 y 5.460 U/l) como en Oriente (5.618 y 5.300 U/l).

Edad: tras estratificar por región y sexo, no hay diferencia por edad.

El cuadro 6 resume conceptualmente los hallazgos anteriores sobre el comportamiento de la colinesterasa plasmática según método de medición, región, sexo y edad. La interacción sexo-edad no existe en Aburrá en ninguno de los tres métodos, pero existe en Oriente en todas tres.

Valores máximos normales de inhibición de la colinesterasa

Al evaluar en personas y grupos la colinesterasa, los resultados con frecuencia se expresan o se utilizan en términos no de la actividad encontrada

Cuadro 6. Síntesis del comportamiento de la colinesterasa plasmática según cada método de medición y las variables región, sexo y edad.

¿Hay diferencia significativa entre los promedios comparados en cada variable?

	Michel	EQM	Monotest
Efectos principales			
Región	no ⁽¹⁾	no	sí (A>O)
Sexo (cada región) ⁽²⁾	sí (H>M)	sí (H>M)	sí (H>M)
Edad ⁽³⁾	no	no	no
Interacción sexo-edad en cada región			
Aburrá	no ⁽⁴⁾	no ⁽⁶⁾	sí ⁽⁸⁾
Oriente	sí ⁽⁵⁾	sí ⁽⁷⁾	sí ⁽⁹⁾

⁽¹⁾ Si hay o no hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios comparados.

⁽²⁾ En cada método, hay diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres de cada región, con o sin estratificación por edad.

⁽³⁾ Estratificando antes por región y sexo.

⁽⁴⁾ F=2,163; p=0,0725

⁽⁵⁾ F=3,600; p=0,0067

⁽⁶⁾ F=1,776; p=0,1328

⁽⁷⁾ F=3,886; p=0,0014

⁽⁸⁾ F=2,947; p=0,0202

⁽⁹⁾ F=3,337; p=0,0105

sino de la inhibición hallada, lo cual resulta de comparar el dato individual con el valor basal de esa persona o, si éste no se conoce, que es muy frecuente, con el valor de referencia poblacional (parámetro) mediante una regla de tres simple, en la que el 100% de la actividad corresponde al parámetro y se calcula a cuánto porcentaje equivale el hallazgo de la persona. Surge un problema relacionado con cuál es el parámetro que se emplea como punto de comparación, pues pueden aplicarse varios como la media poblacional, el límite inferior del intervalo de confianza para esta media u otros. La ACGIH en Estados Unidos de América (27) acepta una mínima actividad del 75% con respecto al valor basal de la persona. En el Laboratorio de Salud Ocupacional del Seguro Social, seccional Antioquia, se acepta como permisible una reducción máxima del 20% del promedio aritmético, es decir, que la mínima actividad requerida es del 80% (0,80) del parámetro. Por ejemplo: con el método de Michel, en Aburrá y entre los 82 hombres menores de 30 años, el promedio aritmético de colinesterasas eritrocitaria es de 0,853 deltas pH/hora, con un error estándar de 0,0094619 y un IC95% para el promedio que oscila entre 0,834 (límite inferior) y 0,871 (límite superior). El 80% del promedio (que es el parámetro) es 0,6824 (0,853 x 0,8) y sería el mínimo valor aceptable de actividad enzimática.

Otra alternativa para definir la reducción máxima en la actividad de la enzima usa el límite inferior del IC95% de la media aritmética, así: si el IC95% para la media aritmética es hallado en personas normales, el límite inferior del intervalo es el menor valor permitido; por ello, se toma este límite como el 100% de la actividad enzimática mínima normal, se multiplica el límite por 0,80 y se obtiene el valor máximo de inhibición aceptable en personas sanas: límite inferior del IC95% x 0,80 = valor máximo aceptable de inhibición. Por ejemplo: en el caso anterior, el límite inferior es de 0,834, cuyo 80% es 0,6672; con el criterio del IC95%, 0,6672 sería el mínimo valor aceptable de actividad enzimática.

Influencia de otras variables en la colinesterasa plasmática

Con los tres métodos, los promedios de la actividad enzimática fueron iguales en las personas Rh

Cuadro 7. Promedios de actividad enzimática entre mujeres según el factor Rh y según método enzimática (EQM y Monotest).

	Rh	No.	Media	IC95% para media	F	p
EQM	negativo	53	2,487	2,410 a 2,564	8,067	0,0047
	positivo	384	2,319	2,291 a 2,348		
Monotest	negativo	53	5415	5209 a 5620	4,729	0,0302
	positivo	384	5072	4996 a 5148		

negativas y Rh positivas, pero al estratificar por sexo aparecieron diferencias (con anova y ARM), aunque sólo dentro de las mujeres y en los casos de EQM y Monotest (cuadro 7).

En cuanto al grupo sanguíneo, tampoco hubo diferencias, pero, otra vez, al estratificar por sexo, y únicamente dentro de las mujeres, los promedios de EQM son distintos, según el anova porque el ARM no detecta diferencias (cuadro 8). La diferencia, si se acepta que existe, estaría entre los grupos A y B, que tienen los valores mínimo y máximo, pues los otros grupos no presentarían diferencia entre sí. Entre las mujeres, el anova de dos vías indica influencia significativa del Rh pero no del grupo sanguíneo en los valores de EQM plasmático.

De paso, se anota que las colinesterasas eritrocitarias no presentaron diferencia alguna según el factor Rh ni según el grupo sanguíneo, estratificando o no por sexo.

Discusión

Michel plasma

Los hallazgos nuestros por sexo no concuerdan del todo con Rider y colaboradores (9), quienes informan valores inferiores, aunque coinciden en encontrar valores superiores en hombres que en mujeres, expresadas como 0,953 deltas pH/hora para hombres y 0,875 deltas pH/hora para mujeres, frente a 1,169 y 1,067 deltas pH/hora

presentados por nosotros para unos y otras. Hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de Rider *et al.* y los nuestros, que son superiores (cuadro 9). Por otra parte, aquellos autores refieren una variación muy grande en ambos sexos, entre 0,52 y 1,39 para hombres y de 0,38 a 1,25 deltas pH/hora para mujeres; nosotros, trabajando con el concepto de IC95%, tenemos niveles de 1,142 a 1,195 deltas pH/hora para los hombres y de 1,043 a 1,091 deltas pH/hora para las mujeres. Hay que insistir en este caso, como antes se hizo para las pruebas eritrocitarias, en que si bien los dos conceptos son diferentes (variación total de IC95%), nuestras cantidades tienen la ventaja de referirse a datos poblacionales y de hacerlo con una probabilidad de acierto del 95%, lo cual no sucede con los otros autores.

Tampoco coinciden del todo nuestros hallazgos con los obtenidos por Henao y colaboradores en jóvenes de 14 a 17 años (7), puesto que ellos tienen niveles inferiores a los nuestros, aunque concordamos en que son superiores los masculinos que los femeninos. En efecto, ellos tienen 0,953 para los hombres y de 0,875 para las mujeres, valores muy inferiores a los de 1,17 y 1,07 hallados por nosotros en hombres y mujeres adultos, respectivamente.

EQM® plasma

Los hallazgos presentes indican colinesterasas plasmáticas por EQM superiores en los hombres que en las mujeres (2,572 frente a 2,451 U/ml), con promedio global de 2,512 U/mL. Este valor es inferior a las 2,860 U/mL que informa EQM Research, sin diferenciar por sexo (17). Nosotros hallamos un IC95% que se mueve entre 2,469 y 2,554 U/ml para el grupo de hombres y mujeres como un conjunto; por su parte, EQM Research da una variación total entre 1,91 y 4,04 U/ml (17). No disponemos de otros datos basados en

Cuadro 8. Promedios de actividad enzimática entre mujeres con el método EQM según el grupo sanguíneo.

Grupo	No.	Media	IC95% para media	F	p
O	258	34,84	34,39 a 35,29	3,074	0,0275
A	39	33,40	32,23 a 34,57		
B	133	35,56	39,93 a 36,19		
AB	7	34,57	31,82 a 37,33		

población colombiana con las cuales podemos comparar. Comparadas con las de EQM Research Inc., las nuestras son inferiores y existe diferencias estadísticamente significativas entre ellas (cuadro 9).

Monotest® plasma

Nuestros valores son menores que los de referencia (cuadro 9), dados por den Blaauwen *et al.* para Monotest® (18), anunciados de la forma que señala el cuadro 10, construido según los datos de la referencia (18), a los cuales nosotros les calculamos un promedio (la marca de clase del intervalo). Esos valores del fabricante son, entonces, iguales para mujeres mayores de 40 años y para hombres. Nosotros obtuvimos un promedio masculino de 5.822 U/l y uno femenino de 5.897 U/l en mujeres de 40 y más años. Así, pues, nuestros hallazgos concuerdan con los dados por Monotest®.

En mujeres de 16 a 39 años, en no embarazadas y en mujeres de 16-39 años que no toman anticonceptivos, nuestros niveles son similares a los dados Monotest®, pero en nuestras mujeres hay algunas embarazadas y algunas que recibían anticonceptivos. Entre las embarazadas y las no

embarzadas los promedios tienen diferencias estadísticamente significativas ($F=5,923$ y $p=0,0029$); específicamente, el promedio de las gestantes fue de 3.650 U/l, el de las mujeres con menstruación en el momento del examen subió a 4.659 U/l y el de las no embarazadas ni gestantes se incremento hasta 5.081 U/l. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre las embarazadas y los otros dos grupos, pero no entre estos últimos. Para las mujeres de 18 a 41 años, para las gestantes o para las consumidoras de anticonceptivos, el fabricante indica una media de 4.200 U/l, dato diferente a los nuestros, que son superiores en las no gestantes ni tomadoras de anticonceptivos y con edad de 18-39 años, y son inferiores en las gestantes. No tenemos niveles para las consumidoras de anticonceptivos.

Colinesterasa plasmática en general

La importancia de disponer de valores autóctonos de colinesterasas se acentuó en 1990, al conocer un polimorfismo de supresión/inserción del gen de la colinesterasa, hallándose, además, una asociación entre los genotipos de este polimorfismo y los niveles séricos de la enzima,

Cuadro 9. Comparación de los valores de referencia de colinesterasa plasmática según otros trabajos y el presente⁽⁰⁾.

	n	X	DE	n	X	DE	F	p
Michel	Rider <i>et al.</i> (9)			Este trabajo				
hombres	200	0,953	0,187	390	1,169	0,178	34,51	0,000000
mujeres	200	0,817	0,187	437	1,067	0,175	48,17	0,000000
EQM®	EQM Research Inc. (4,5)			Este trabajo				
hombres	⁽¹⁾ 2,860	0,563		390	2,572	0,4380	7,70	0,005743
mujeres	⁽¹⁾ 2,860	0,563		437	2,451	0,4060	16,86	0,000047
Monotest®	den Blaauwen <i>et al.</i> (18)			Este trabajo				
hombres	? ⁽²⁾ 6.000	1.200 ⁽³⁾		390	5.822	1.119	536,86	0,000000
mujeres	? ⁽²⁾ 5.100	1.200 ⁽³⁾		437 ⁽⁴⁾	5.360	1.080	1.391,54	0,000000

⁽⁰⁾ n: número; X: promedio; DE: desviación estándar; F: estadístico F; p: valor de probabilidad

⁽¹⁾ Son 47 personas entre hombres y mujeres.

⁽²⁾ No se conoce el número de personas, tienen de 18 a 41 años, no embarazadas, no usan anticonceptivos.

⁽³⁾ Se ignora la desviación estándar. El intervalo informado está entre 3.500 y 8.500 para hombres y 2.800 y 7.400 para mujeres, es decir, es muy amplio. Se supone una DE del 20% de la media, o sea, DE=1.200 U/l, para hacer la comparación estadística.

⁽⁴⁾ Mujeres de 18-75 años que incluye 21 anémicas, 14 embarazadas, 16 usuarias de anticonceptivos orales. Si la comparación se hace con 47 mujeres menores de 50 años, sin anemia y sin embarazo, de las cuales 8 a 10 toman anticonceptivos orales, también hay diferencia significativa ($n=47$, $\bar{X}=4.659$, $DE=932$; $F=2.849,41$ y $p=0,000000$).

Cuadro 10. Valores de referencia para colinesterasa en plasma medida por Monotest®, según den Blaauwen *et al.* (18) y según nuestros datos.

Grupo	Valores de den Blaauwen <i>et al.</i> (18) U/L	Valores nuestros U/L
Niños, hombres y mujeres ≥40 años	3.500-8.500 media: 6.000	5.822 hombres 5.897 mujeres ≥40 años
Mujeres de 16-39 años no embarazadas ni toman anticonceptivos	2.800-7.400; media: 5.100	5.010 mujeres 18-39 años
Mujeres de 18-41 años embarazadas o que toman anticonceptivos	2.400-6.000	3.650 a) gestantes 4.659 b)menstruantes media: 4.200 5.081 ni a) ni b)

de tal forma que las personas homocigotes para el alelo de la supresión (*deletion*, en inglés) (DD) tienen los niveles plasmáticos mayores, mientras que las homocigotes para el alelo de inserción (II) poseen los niveles más bajos y las heterocigotes poseen valores intermedios; la fuerza de esta influencia varía en poblaciones de diferente origen étnico (20). Además de las variaciones normales de índole genética como las antes referidas, los niveles de la enzima pueden verse afectados por variantes genéticas disfuncionales, por exposición a inhibidores enzimáticos, por biosíntesis reducida (21).

Henao y Corey (1) revisaron varios estudios sobre la relación de la edad y la actividad colinesterásica plasmática y encontraron que, en general, no hay cambios de la segunda por razón de la edad. En 2001, Abou-Hatab y colaboradores no hallaron correlación entre los valores de actividad colinesterásica plasmática y edad, al estudiar 70 personas sanas de 18 a 85 años (22). Lo anterior (1,22) concuerda con nuestros hallazgos, pero debe anotarse que nuestros valores en adultos son francamente superiores a los hallados por Henao y colaboradores (7) en adolescentes de 14-17 años.

Por sexo, Rider y colaboradores (9) encontraron cantidades superiores en hombres que en mujeres con el método de Michel, lo cual concuerda con nuestros hallazgos. EQM Research aporta niveles sin diferenciar por sexo (17), pero nosotros encontramos valores masculinos más altos, e igual sucedió con Monotest.

En 1998, Carlock y asociados señaló que una amplia evaluación de los datos industriales y la literatura disponible, indican que los siguientes principios de evaluación de riesgo son sostenibles y protectores de la salud humanos: 1) la inhibición de la colinesterasa plasmática no es un efecto adverso y, por ello, no debe ser usada para evaluar riesgo; 2) la colinesterasa eritrocitaria no está asociada con el sistema nervioso y su inhibición *per se* no es un efecto adverso neurotóxico (23). Estos criterios, junto con las conclusiones de Wills en 1972 (24) deben orientar los programas de vigilancia epidemiológica de exposición a PIC.

Se ha informado de cierta relación del factor Rh con la colinesterasa plasmática entre mujeres embarazadas, asociación no encontrada en no grávidas ni en hombres (25); los autores señalan que el nivel de actividad en sangres materna y del cordón umbilical fue significativamente menor en las mujeres Rh negativa que en las Rh positivo. Otros autores no han hallado tal asociación (26). Nosotros encontramos una relación entre los niveles de colinesterasa plasmática y el factor Rh que depende del método de medición enzimática y del sexo: en efecto, únicamente se encontró en mujeres y sólo en la enzima medida con los procedimientos EQM y Monotest (no con Michel); además, nuestros datos indican que las 14 gestantes tenían niveles significativamente menores que las no gestantes, con la coincidencia de que todas las embarazadas fueron Rh positivo, por lo que no pudimos precisar en forma separada la influencia de la gestación y del factor Rh; no obstante, trabajando con EQM y con las mujeres sin embarazo, pudimos encontrar que las Rh negativo tienen niveles enzimáticos significativamente mayores que las Rh positivo, lo cual es contrario a lo informado por Whittaker y asociados (25), quienes informaron valores menores en las Rh negativo, que estaban, además, embarazadas.

Pero surge la confusión cuando se considera que esta situación la hallamos sólo en la región de Oriente, pues en Aburrá los promedios de enzima según el Rh son estadísticamente iguales. El panorama se hace más oscuro al trabajar con Monotest y las no embarazadas, pues ahora los promedios son diferentes en función del Rh sólo en Aburrá, pero no en Oriente. No es posible, entonces, concluir con claridad sobre la relación colinesterasa y Rh, pues el método de medición y el embarazo influyen también.

En Colombia, el programa de vigilancia epidemiológica de plaguicidas organofosforados y carbamatos opera desde 1981 mediante un convenio entre el Laboratorio de Salud Ambiental del Instituto Nacional de Salud y las direcciones seccionales de salud del país; la evaluación epidemiológica de los expuestos la hace con el método de Limperos y Ranta y aplica equipo Lovibond®; durante 1993-1995 se halló que el 6,2% de 41.899 examinados expuestos a PIC o carbamatos, en 17 seccionales, tenía resultados anormales de colinesterasas (27), dato que fue similar (6,1%) en el período 1996-1997 (27), pero hay zonas como los departamentos de Córdoba y Bolívar donde el porcentaje es muy alto: 17,7% y 20,3%, en su orden, lo que implica que uno de cada 5-6 expuestos está intoxicado, situación más grave si se conoce que apenas el 36% de los estudiados tenían afiliación a la seguridad social (28).

Como en el mundo, en Colombia los PIC causan la mayoría de intoxicaciones con plaguicidas (herbicidas, fungicidas, insecticidas) (1,29,30), lo cual hace necesario tomar decisiones en forma cotidiana tanto en programas de vigilancia epidemiológica (personas expuestas en el trabajo) como en situaciones clínicas (tratamiento de intoxicados). Los valores hallados en este trabajo para la actividad colinesterásica plasmática, por los tres métodos, son estadísticamente diferentes (unos superiores, otros inferiores) de los usados como referencia en Colombia. Existe diferencias estadísticamente significativas entre los datos estandarizados y sin estandarizar, pero no parece haber problema si se trabaja con los segundos, inclusive para la toma de decisiones epidemiológicas y clínicas, debido a que la

magnitud de la diferencia en términos prácticos es casi nula.

De acuerdo con todo lo antes presentado en los resultados y lo dicho en esta discusión, debe recomendarse que los datos de referencia para colinesterasa plasmática se usen teniendo en cuenta la región, el sexo y la edad, ya que la variación de los resultados según estas tres variables es notoria pero no uniforme según el método de medición enzimática, como se resume en el cuadro 6. Es decir, en el cuadro correspondiente a cada método se consultará la sección ABC, que entrega los valores en función de las tres variables.

Métodos de medición enzimática empleados

El procedimiento definido por Michel (9) y consolidado por Rider y asociados (9) se erigió como la prueba de referencia o estándar para medir la actividad colinesterásica, tanto en eritrocitos como en plasma. Es un método de ortodoxia química, sencillo y confiable, de amplio uso, no tan preciso ni tan sensible como el barométrico de Warburg o el de titulación de pH de Naab y Whitfield; debido a la disminución de la inhibición durante el lapso de incubación es recomendable sólo en población expuesta a PIC (1). El método EQM usa el método colorimétrico o espectrofotométrico desarrollado por Ellman (14) y adaptado por Magnoli (4,5). Es moderadamente simple, requiere laboratorista con relativamente poca destreza, es un procedimiento rápido, conveniente y confiable, con muy buena precisión y óptima sensibilidad (1); más rápido y sensible que Michel y la versión desarrollada en 1978 por la OMS con miniespectrofotómetro es portátil y conserva todas las ventajas enunciadas (1). El método Monotest, desarrollado por una empresa de amplia experiencia en este campo, es nuevo en el medio colombiano y su inclusión en el estudio buscaba, justamente, compararlo con los otros dos, sobre las cuales tenemos más experiencia.

Los métodos de Michel y EQM fueron ejecutados por dos químicas con amplísima y cotidiana experiencia en ello, quienes, entre otros trabajos, ya habían realizado uno previo sobre la actividad

colinesterásica en adolescentes trabajadores, tanto expuestos como no expuestos a PIC (7). El método Monotest fue ejecutado por una química experimentada en un laboratorio con experiencia en esta clase de análisis, considerado un centro de referencia nacional, como es el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia.

La concordancia entre los tres procedimientos, según los índices kappa de Cohen (K) y J de Youden es buena (así se consideran los valores de K y de J entre 0,40 y 0,70); en efecto, para los tres pares de comparaciones (Michel-EQM, Michel-Monotest, EQM-Monotest), K osciló entre 0,480 y 0,490, mientras J se movió entre 0,510 y 0,570. Los valores hallados podrían indicar que hay diferencias en la sensibilidad de los tres métodos y es conveniente realizar estudios sobre capacidad diagnóstica de estos métodos en población colombiana, lo cual implica trabajar con personas sanas y expuestas/intoxicadas.

De acuerdo con los antecedentes, en Colombia no se tienen valores de referencia autóctonos (basados en población colombiana) para la actividad de colinesterasa eritrocitaria, plasmática ni en sangre total; esta carencia es especialmente preocupante en la población laboral, que es la más expuesta a los PIC y a los efectos nocivos que ellos pueden ocasionar y, en efecto, ocasionan. La construcción de valores de referencia es una tarea compleja y exige la definición de numerosos criterios y condiciones de normalidad (población), que no son fáciles de reunir. Esta investigación, realizada en población laboral activa, afiliada a la seguridad social, no expuesta a PIC, con edad entre 18 y 50 años, tanto hombres como mujeres, residentes en dos zonas geográficas y socio-económicas diferentes en el departamento de Antioquia, mostró diferencias importantes entre los métodos enzimáticos y en función del sexo y, en menor grado, de la región, y ninguna diferencia en función de la edad. En cambio, siempre existe diferencia entre los valores promedios hallados en esta investigación y los valores foráneos usados como referencia para tomar decisiones clínicas y epidemiológicas.

Con base en los resultados, su análisis e

interpretación, y considerando la información sobre variaciones genéticas de la expresión de la enzima (20,31,32) y la carencia de datos autóctonos en Colombia, consideramos que los presentes valores deben preferirse a los europeos o norteamericanos para ser usados como valores de referencia al tomar decisiones clínicas y epidemiológicas. Hay que decir que, si bien es cierto que las dos muestras poblacionales estudiadas por nosotros no representan a Colombia, no nos cabe la menor duda de que es más apropiado usar como punto de referencia estas muestras y los datos que produjeron, en vez de seguir empleando valores foráneos, que como lo habían hallado Henao y colaboradores (7), son muy diferentes a los nativos. Claro está que la tarea prioritaria consiste en ejecutar una investigación similar a la presente con una muestra representativa de toda la población laboral colombiana.

Agradecimientos

A Samuel Henao, iniciador del proyecto investigativo cuando se desempeñó como gerente de la Administradora de Riesgos Profesionales del Seguro Social en el departamento de Antioquia (Colombia) y lo apoyó luego desde su cargo de jefe nacional de Salud Ocupacional del Seguro Social.

A Flor María Zapata y Rocío Garcés (químicas), María Isabel Gallego (médica de salud ocupacional) y Samuel Henao quienes, junto con el autor, crearon el proyecto de investigación. Las doctoras Zapata y Garcés realizaron las mediciones químicas (Michel, EQM). Por diversas razones, todos estos profesionales ya no están vinculados al Seguro Social.

Al Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia (química Fanny Cuesta) por su intervención en la realización de las mediciones químicas con Monotest.

A Gabriel Agudelo, estadístico y bioestadístico, del Departamento de Matemáticas de la Universidad de Antioquia, por su asesoría.

Al Fondo de Promoción de la Salud Industrial del Seguro Social (Colombia) por la cofinanciación del proyecto.

Referencias

1. **Henao S, Corey G.** Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Serie Vigilancia 11. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Metepec, México: ECO, OPS, OMS; 1991.
2. **International Programme on Chemical Safety (IPCS).** Organophosphorous insecticides: a general introduction. Environmental Health Criteria N° 63. Geneve, Switzerland: WHO, ILO; 1986.
3. **International Programme on Chemical Safety (IPCS).** Carbamate pesticides: a general introduction. Environmental Health Criteria N° 64. Geneve, Switzerland: IPCS; 1986.
4. **Magnotti RA Jr, Eberly JP, Quarm DEA, McConell RS.** Measurement of acetylcholinesterase in erythrocytes in the field. Clin Chem 1987;33:1731-5.
5. **Magnotti RA Jr, Dowling K, Eberly JP, McConell RS.** Field measurement of plasma and erythrocytes cholinesterases. Clin Chem Acta 1988;315:315-32.
6. **Schwarz M, Glick D, Lowenstein Y, Soreq H.** Engineering of human cholinesterases explains and predicts diverse consequences of administration of various drugs and poisons. Pharmacol Ther 1995;67: 283-322.
7. **Henao S, Zapata FM, Restrepo MP, Marín LE, Ramírez H, Corrales R et al.** Actividad colinesterásica en menores trabajadores, Antioquia (Colombia), 1989-1990. Medellín: Instituto de Seguros Sociales y Universidad de Antioquia; 1990. p.115.
8. **Carmona-Fonseca J, Henao S, Garcés R.** Valores de referencia de actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa. Rev Fac Nal Salud Publ (Medellín) 2000;18:55-72.
9. **Rider JA, Hodges JL Jr, Swader J, Wiggins AD.** Plasma and cell cholinesterase in 800 «healthy» blood donors. J Lab Clin Med 1957;50:376-83.
10. **Aldridge WN.** The nature of the reaction of organophosphorous compounds and carbamates with esterases. Bull WHO 1971;44:25-30.
11. **Kangas J, Jauhiainen A.** Determination of cholinesterase activity. Afr Newslett Occup Health and Safety 1991;2:56-8.
12. **Michel HO.** An electrometric method for determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity. J Lab Clin Med 1949;34:1564-8.
13. **Naab DP, Whitfield F.** Determination of cholinesterase by the automated delta pH stat method. Arch Environ Health 1967;15:147.
14. **Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM.** A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961;7:88-95.
15. **Riddles PW, Blakely RL, Zerner B.** Reassessment of Ellman's reagent. Methods Enzymol 1983;91:4960.
16. **WHO, Vector Biology Control Division.** Pesticide DEM and safe use unit. Spectrophotometer kit for measuring cholinesterase activity. WHO/VBC/84.888. Geneva, Switzerland: WHO; 1984.
17. **EQM Research Inc.** Cholinesterase kit for the field determination of pesticide exposure. Instruction manual. Cincinnati (Ohio): EQM; 1994.
18. **den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritzschler W.** Cholinesterase (EC 3.1.1.8) with butyrylthiocholiniodide as substrate: references depending on age and sex with special reference to hormonal effects and pregnancy. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:381.
19. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH).** Threshold limit values (TLV) for chemical substances in the work environment adopted by ACGIH for 1995-1996. Cincinnati, USA: ACGIH; 1995.
20. **Ruprecht B, Schurmann M, Ziegenhagen MW, vom Bauer E, Meir D, Schlaak M et al.** Corrected normal values for serum ACE by genotyping the deletion/insertion-polymorphism of the ACE gene. Pneumologie 2001; 55 (7): 326-332. Original en alemán; resumen consultado en Internet: www.nlm.nih.gov. (31 agosto 2002).
21. **Morton F.** Detection of cholinesterase inhibition. The significance of cholinesterase measurements. Ann Clin Lab Sci 1988;18:345-452.
22. **Abou-Hatab K, O'Mahony MS, Patel S, Woodhouse K.** Relationship between age and plasma esterases. Age Ageing 2001;30:41-5.
23. **Carlock LL, Chen WL, Gordon EB, Killeen JC, Manley A, Meyer LS et al.** Regulating and assessing risks of cholinesterase-inhibiting pesticides: divergent approaches and interpretation. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 1999;2:105-60.
24. **Wills JH.** The measurement and significance of changes in the cholinesterase activities of erythrocytes and plasma in man and animals. CRC Crit Rev Toxicol 1972;1:153-202.
25. **Whittaker M, Crawford JS, Lewis M.** Some observations of levels of plasma cholinesterase activity within an obstetric population. Anaesthesia 1988;43:42-5.
26. **Primo-Parmo SL, Chautard-Freire-Maia EA.** Absence of linkage between the serum cholinesterase (CHE1) and rhesus (RH) loci. Hum Genet 1982;60:284-6.
27. **Varona M, Morales L, Ortiz J, Sánchez J, Cárdenas O, De la Hoz F.** Panorama epidemiológico de exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa en 17 departamentos del país. Biomédica 1998;18:22-9.

28. **Silva E, Morales L, Ortiz JE.** Evaluación epidemiológica de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasas en Colombia, 1996-1997. *Biomédica* 2000;20:200-9.
29. **Morales L, Silva E, Ortiz JE, Ramírez P, García A.** Intoxicación por plaguicidas en el departamento del Valle del Cauca, 1997. *Inf Quinc Epidem Nac* 1998;3: 222-5.
30. **Idrobo AJ.** Intoxicaciones masivas con plaguicidas en Colombia. *Biomédica* 1999;19:67-76.
31. **Gerreiro, JF, Santos, SEB, Black, FL.** Frequencies of the atypical and C5 variants of serum cholinesterase in Wayana-Apalai Indians. *Rev Bras Genet* 1985;8: 123-9.
32. **Rosalki SB.** Genetic influences on diagnostic enzymes in plasma. *Enzyme* 1988;39:95-109.